

阿部康次、寺本 彰

目的別テーマ：天然繊維の高機能化と応用

16年度研究テーマ

15-2-5 : 天然多糖類の高機能化と医用材料への応用

ABSTRACT

Cells in vivo are surrounded by extracellular matrix (ECM) composed of collagen, glycosaminoglycan (GAG), etc. It is well known that GAG regulates the growth, differentiation, morphology, and functional expression of cells. We have already reported that polysaccharide type polyelectrolyte complex could control osteoblast functions. In this report, we immobilized polysaccharide on tissue culture dishes (TCD) by photo chemical reaction and cultured chondrocyte (ATDC5) on these dishes. On the hyarulonon and carboxymethyl chitin immobilized surfaces, ATDC5 formed aggregates and cell specific function were enhanced. On the alginic acid, carboxymethyl cellulose and sulfate hyarulonon immobilized surfaces, the cell proliferated similar to TCD. These results suggested that the function of ATDC5 were mainly affected by structure of polysaccharide.

研究目的

自己修復が困難である軟骨の治療において、培養軟骨細胞を軟骨欠損部に移植するという新しい再生医療が注目されている。そのためには、軟骨細胞を良好に培養し、機能を発現させる優れた培養基材が必要である。我々は既に、生体内で細胞の足場となっている細胞外マトリックスの主成分であるグリコサミノグリカンとその類似物である多糖を固定化した培養基材を用いることにより、骨芽細胞の機能をある程度制御できることを明らかにしてきた。本研究ではこの様な多糖類を固定化した基材を用い、軟骨細胞に分化する能力を有する ATDC5 を培養することにより軟骨再生材料としての有用性を検討した。

一年間の研究内容と成果

ATDC5 は、組織培養用ディッシュ (TCD) 上では接着、伸展して増殖し、コンフルエントになると分化機能が亢進されて軟骨基質の産生が促進される。多糖類固定化基材に ATDC5 を播種したところ、培養 3 時間で Hya には 6 割ほどの接着率を示し、他の dish にはほぼ全ての細胞が接着した。培養日数の経過とともにアルギン酸 (Alg)、カルボキシメチルセルロース (CMCel)、硫酸化ヒアルロン酸 (SHya) 上の細胞はコントロールである TCD と同様にシート状に伸展、増殖したのに対し、カルボキシメチルキチン (CMCHN)、ヒアルロン酸 (Hya) 上では、細胞凝集塊を形成した (Fig.1)。また、凝集塊を形成する CMCHN、Hya 上では他の dish に比べ増殖が抑制された。軟骨基質を染色するアルシアンブルー染色を行ったところ、細胞が伸展している dish 上では全体的に薄く染色されたのに対し、CMCHN、Hya 上では凝集塊の中心が濃く染色され、軟骨基質が盛んに生産されていることが示された。また、RT-PCR 法の結果より CMCHN、Hya 上では、軟骨分化のマーカである II 型コラーゲンとアグリカンの mRNA の早期発現が観察され、遺伝子レベルでの軟骨基質の早期産生が確認された。このように ATDC5 細胞に凝集塊を形成させる多糖類固定化基材は、早期に軟骨細胞への分化を誘導させることのできる優れた基材であることが示された。

展望

今後は細胞と基材との相互作用についてさらに詳細に検討を行うとともに、医療への実際の応用を目指した基材の開発を行う計画である。

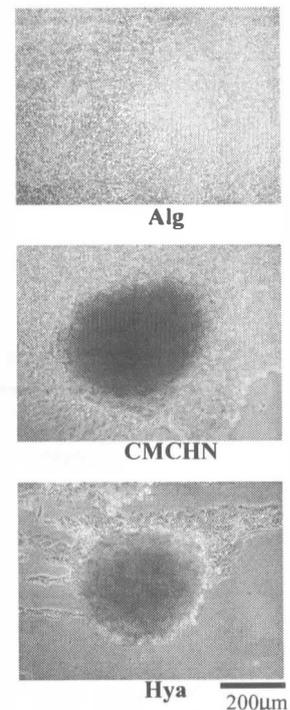


Fig.1 Morphology of ATDC5 cells cultured on polysaccharide immobilized dishes for 14days